

表2. 病理診断項目

| No | 氏名 | | | | | | |
|-----------------------|----------------------------|-------------------|-------|-------------|-----------|------------------|------------------|
| 門脈域 | Portal fibrosis | 0 | 1 | 2 | 3 | 4(LC) | |
| | Portal inflammation | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Lymph follicle | - | | + | | | |
| | Eosinophils | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Plasma cells | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Granuloma | - | | + | | | |
| | Pigmented macrophages | - | | + | | | |
| | Bile duct injury | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Granulomatous cholangitis | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Periductal fibrosis | - | | + | | | |
| | Bile duct loss | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Interface hepatitis | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Atypical ductular reaction | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | Rosette formation | 0 | 1 | 2 | 3 | | |
| | 肝実質 | Lobular hepatitis | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| Zonal necrosis | | - | | + | | | |
| Bridging necrosis | | - | | + | | | |
| Submassive necrosis | | - | | + | | | |
| Acid philic bodies | | - | | + | | | |
| Pigmented macrophages | | - | | + | | | |
| Bile plugs | | - | | + | | | |
| Mallory bodies | | - | | + | | | |
| Feathery degeneration | | - | | + | | | |
| Syncytial giant cells | | - | | + | | | |
| 脂肪化 | | 0 | 1 | 2 | | | |
| 核空胞化 | | - | | + | | | |
| Diagnosis | | PBC | stage | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | | | Early | Cholestatic | | Hepatic | |
| | | AIH | Acute | CAH | Cirrhosis | Acute on chronic | With duct injury |
| | Others | | | | | | |

表3. 解析に使用した臨床的因子とその二分化 (名義変数化)

| | Cut-off valueは値の分布より決定した |
|---------------------|--------------------------|
| ● Gender | M or F |
| ● ALT | 120IU/L ↑ or ↓ |
| ● ALP比 (施設正常値に対する比) | 1.3 ↑ or ↓ |
| ● ALP/ALT | 1.5 ↑ or ↓ |
| ● IgG | 2200mg/dl ↑ or ↓ |
| ● IgM | 300mg/dl ↑ or ↓ |
| ● ANA | 40倍 ↑ or ↓ |
| ● AMA | 20倍 ↑ or ↓ |

表4. 暫定的至適基準を用いた単変量解析により有意差が認められた臨床因子

| (1) AIH vs nonAIH | (2) PBC vs nonPBC |
|-------------------|-------------------|
| ANA | ANA |
| AMA | AMA |
| IgG | IgG |
| IgM | IgM |
| ALT | ALT |
| ALP比 | ALP比 |
| ALP/ALT | ALP/ALT |

表5. 単変量解析により有意差が認められた病理因子

| (1) AIH vs nonAIH | (2) PBC vs nonPBC |
|----------------------------|----------------------------|
| Portal fibrosis* | Portal fibrosis* |
| Granuloma* | Granuloma* |
| Bile duct injury* | Bile duct injury* |
| Bile duct loss* | Bile duct loss* |
| Granulomatous cholangitis* | Granulomatous cholangitis* |
| Interface hepatitis* | Interface hepatitis* |
| Atypical ductular reaction | Atypical ductular reaction |
| Rosette formation* | Rosette formation* |
| Lobular hepatitis* | Lobular hepatitis* |
| Zonal necrosis | Zonal necrosis |
| Bridging necrosis | Bridging necrosis |
| Submassive necrosis | Submassive necrosis |
| Acid philic bodies | Acid philic bodies |
| Pigmented macrophages | Pigmented macrophages |
| | Bile plugs |

*: 登録時アンケート項目

表6. 多変量解析により選択された独立した説明変数

| (1) AIH vs nonAIH | (2) PBC vs nonPBC | |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| ALP | ALP/ALT比 | ALP |
| ALT | AMA | ALT |
| AMA | bile duct injury | AMA |
| bile duct injury | bile duct loss | bile duct injury |
| bile duct loss | rosette formation | bile duct loss |
| rosette formation | lobular hepatitis | rosette formation |
| loblar hepatitis | | loblar hepatitis |
| ↓ | ↓ | ↓ |
| RSquare=0.9308 | RSquare=0.8317 | RSquare=0.8730 |

表7. ロジスティック回帰モデル説明変数に対する係数 (estimate) (暫定的至適基準症例による検討)

| | (1) AIH vs nonAIH | (2) PBC vs nonPBC |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| Intercept | -2.3174979 | -1.8892573 |
| ALP比 | 4.64507947 | 2.01278936 |
| ALT | 3.94281863 | 2.01849363 |
| AMA | 3.48829853 | 2.08971231 |
| bile duct injury | 4.73156635 | 2.98969759 |
| bile duct loss | 3.32347281 | 2.47111546 |
| rosette formation | 2.22395846 | 1.18755229 |
| lobular hepatitis | 3.27471466 | 1.85914387 |

表8. 自己免疫性肝疾患診断のロジスティック回帰モデル

$$P = \frac{1}{1 + \exp[-(b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_5x_5 + b_6x_6 + b_7x_7)]}$$

In case of $P > 0.85$, diagnosed AIH or PBC.

P : Disease probability
 b_0 : intercept
 $b_1 - b_7$: the estimate (regression coefficient) for each variable
 $x_1 - x_7$: the value for ALP, ALT, AMA, bile duct injury, bile duct loss, rosette formation, lobular hepatitis

表9. 主治医-病理医診断一致症例に対する診断精度 (n=269)

1) AIH診断精度 (AIH側からの検討) $P(\text{AIH}) \geq 0.85$
 (AIH92例, nonAIH177例)

感度 (sensitivity) 86/92 (93.5%)
 特異度 (specificity) 177/177 (100%)
 陽性的中率 (PPV) 86/86 (100%)
 正診率 (accuracy) 263/269 (97.8%)

2) PBC診断精度 (PBC側からの検討) $P(\text{PBC}) \geq 0.85$
 (PBC175例, nonPBC94例)

感度 (sensitivity) 156/175 (89.1%)
 特異度 (specificity) 91/94 (96.8%)
 陽性的中率 (PPV) 156/159 (98.1%)
 正診率 (accuracy) 247/269 (91.8%)

表10. 主治医-病理医診断一致例における理論診断分布 (269例)

| 診断 | 症例数 | $P \geq 0.85$ | $P \geq 0.70$ |
|-----|-----|--|---|
| AIH | 92 | 86 (93.5%) AIH | 87 (94.6%) AIH |
| | | 4 (4.3%) $P(\text{AIH})=0.398 \sim 0.844$ $P(\text{PBC})=0.091 \sim 0.411$ | 3 (3.3%) $P(\text{AIH})=0.398 \sim 0.528$ $P(\text{PBC})=0.277 \sim 0.411$ |
| | | 2 (2.2%) PBC | 2 (2.2%) PBC |
| PBC | 164 | 0 (0%) AIH | 0 (0%) AIH |
| | | 16 (9.8%) $P(\text{AIH})=0.019 \sim 0.622$ $P(\text{PBC})=0.730 \sim 0.828$ | 3 (1.8%) $P(\text{AIH})=0.375 \sim 0.622$ $P(\text{PBC})=0.307 \sim 0.566$ |
| | | 148 (90.2%) PBC | 161 (98.2%) PBC |
| PSC | 2 | 0 (0%) AIH | 0 (0%) AIH |
| | | 1 (50.0%) $P(\text{AIH})=0.008$ $P(\text{PBC})=0.805$ | 0 (0%) |
| | | 1 (50.0%) PBC | 2 (100%) PBC |
| AIC | 11 | 8 (72.7%) PBC | 10 (90.9%) PBC |
| | | 3 (27.3%) $P(\text{AIH})=0.007 \sim 0.375$ $P(\text{PBC})=0.566 \sim 0.805$ | 1 (9.1%) $P(\text{AIH})=0.375$ $P(\text{PBC})=0.566$ |
| | | 0 (0%) AIH | 0 (0%) AIH |

表11. 主治医診断のみによる診断精度 解析可能症例数602例

1) AIH診断精度 (AIH側からの検討) $P(\text{AIH}) \geq 0.85$
 (AIH214例, nonAIH388例)

感度 (sensitivity) 186/214 (86.9%)
 特異度 (specificity) 342/388 (88.1%)
 陽性的中率 (PPV) 186/232 (80.2%)
 正診率 (accuracy) 528/602 (87.7%)

2) PBC診断精度 (PBC側からの検討) $P(\text{PBC}) \geq 0.85$
 (PBC306例, nonPBC296例)

感度 (sensitivity) 247/306 (80.7%)
 特異度 (specificity) 251/296 (84.8%)
 陽性的中率 (PPV) 247/292 (84.6%)
 正診率 (accuracy) 498/602 (82.7%)

表12. 主治医診断に対する理論診断の適応 (602例)

| 診断 | 症例数 | $P \geq 0.85$ | $P \geq 0.70$ |
|------------|-----|---|---|
| AIH | 214 | 186 (87%) AIH | 189 (88.3%) AIH |
| | | 20 (10%) $P(\text{AIH})=0.008 \sim 0.844$ $P(\text{PBC})=0.091 \sim 0.411$ | 3 (1.4%) $P(\text{AIH})=0.398$ $P(\text{PBC})=0.277$ |
| | | 8 (4%) PBC | 22 (10.3%) PBC |
| PBC | 281 | 16 (6%) AIH | 17 (6.0%) AIH |
| | | 38 (14%) $P(\text{AIH})=0.008 \sim 0.820$ $P(\text{PBC})=0.378 \sim 0.828$ | 4 (1.4%) $P(\text{AIH})=0.302 \sim 0.375$ $P(\text{PBC})=0.378 \sim 0.566$ |
| | | 227 (81%) PBC | 260 (92.5%) PBC |
| PSC | 14 | 2 (14%) AIH | 2 (14.3%) AIH |
| | | 5 (36%) $P(\text{AIH})=0.008$ $P(\text{PBC})=0.805$ | 0 |
| | | 7 (50%) PBC | 12 (85.7%) PBC |
| AIC | 25 | 20 (80%) PBC | 22 (88.0%) PBC |
| | | 2 (8%) $P(\text{AIH})=0.008$ $P(\text{PBC})=0.805$ | 0 |
| | | 3 (12%) AIH | 3 (12.0%) AIH |
| overlap症候群 | 38 | 7 (18%) AIH | 8 (21.1%) AIH |
| | | 7 (18%) $P(\text{AIH})=0.008 \sim 0.844$ $P(\text{PBC})=0.091 \sim 0.826$ | 2 (5.3%) $P(\text{AIH})=0.302 \sim 0.598$ $P(\text{PBC})=0.378 \sim 0.601$ |
| | | 24 (63%) PBC | 28 (73.7%) PBC |
| others | 30 | 18 (60%) AIH | 24 (80.0%) AIH |
| | | 6 (20%) $P(\text{AIH})=0.008$ $P(\text{PBC})=0.805$ | 0 |
| | | 6 (20%) PBC | 6 (20.0%) PBC |

表13. 病理診断の一致性 (施設医 vs 病理医)

| | 観察された一致率 | kappa値 |
|-------------------|-----------------|----------|
| bile duct injury | 284/438 (0.648) | 0.183113 |
| bile duct loss | 301/446 (0.675) | 0.285631 |
| rosette formation | 337/430 (0.784) | 0.302849 |
| lobular hepatitis | 316/441 (0.717) | 0.350821 |

表14. 例外症例の検査データ比較

| 診断名 | 症例数 | 女比 % | 年齢 歳 | ALT IU/L | T.Bil mg/dl | ALP比 倍 | *ALP比: ALP上限値との比較 | |
|------------|-----|------|------|----------|-------------|--------|-------------------|-----------|
| | | | | | | | IgG mg/dl | IgM mg/dl |
| A ANA陽性 | 309 | 88.4 | 54.5 | 213 | 3.6 | 1.3 | 2775 | 262 |
| I ANA陰性 | 20 | 85.0 | 46.0 | 574 | 7.4 | 1.5 | 2308 | 288 |
| H AMA陽性 | 24 | 83.3 | 51.8 | 257 | 3.8 | 1.3 | 2390 | 358 |
| P AMA陽性 | 338 | 85.1 | 55.7 | 66 | 1.1 | 2.0 | 1781 | 456 |
| B AMA陰性 | 67 | 90.9 | 56.0 | 67 | 1.0 | 2.3 | 1693 | 373 |
| C AIC | 36 | 88.9 | 57.3 | 75 | 0.8 | 2.3 | 1911 | 289 |
| overlap症候群 | 52 | 90.4 | 52.5 | 186 | 2.1 | 2.0 | 2398 | 497 |

E. 結論

わが国における自己免疫性肝疾患の論理的診断を行った。

- 1) Exclusion criteriaで集積された自己免疫性肝疾患は論理式診断により、大きくAIH群、PBC群に二分され、各群に包含されない症例は極めて少数であった。この成績は自己免疫性肝疾患は二つの独立した疾患群で構成されていることを示している。
- 2) 主治医の臨床診断に影響を与える因子の一つに、病理診断の不一致があることが示された。

- 3) 多重ロジスティック解析により、選択された7つの独立因子 (ALT, ALP比, AMA, Bile duct injury, Bile duct loss, Rosette formation, Lobular hepatitis) を用いた自己免疫性肝疾患の論理診断式を作成し、その有用性を明らかにした。
- 4) この論理式を用いることにより、診断困難な症例が鑑別可能となることが示され、治療に当たっても有用であることが示された。

今後、本診断式の前向き試験が必要である。

F. 謝辞

今回のアンケート調査にご協力いただいた下記施設に深謝致します。

NTT西日本東海病院、愛知医科大学内科学第一講座、愛媛大学医学部第三内科、旭川医科大学第二内科、杏林大学医学部第三内科学教室、横須賀共済病院内科、横浜市立大学医学部第二外科、岡山大学医学部第一内科、関西医科大学第三内科、岩手医科大学第一内科、岐阜大学医学部附属病院第一内科、久留米大学医学部第二内科教室、京都府立医科大学第三内科教室、金沢大学がん研究所附属病院内科、金沢大学医学部第一内科、九州大学大学院医学研究院、慶応義塾大学病院消化器内科、広島赤十字原爆病院第二内科、広島大学医学部第一内科、弘前大学医学部第一内科教室、香川医科大学第三内科、高知医科大学医学部附属病院第一内科、国立横浜病院消化器科、国立小倉病院、国立相模原病院内科、国立長崎中央病院臨床研究部、国立病院九州医療センター消化器科、国立療養所東京病院、国立療養所東京病院消化器科、佐賀医科大学内科、埼玉医科大学第三内科、札幌医科大学第一内科、三楽病院内科、三重県立総合医療センター内科、山口大学医学部第一内科、山梨医科大学内科学講座第一教室、産業医科大学臨床病態学、社会保険広島市民病院、自治医科大学消化器内科、社会保険中央総合病院、社会保険中京病院消化器科、秋田大学医学部第一内科、順天堂大学、順天堂大学医学部消化器内科、城瑞厚生病院、信州大学医学部第二内科、新潟大学医学部第三内科、川崎医科大学消化器I内科、川崎医科大学付属川崎病院肝臓病センター、大阪市立総合医療センター消化器内科、大阪市立大学医学部附属病院第三内科、大阪大学医学部第二内科、大阪大学医学部分子制御内科学、筑波大学医学部小児科、筑波大学医学部消化器内科、長崎大学医学部第一内科、長崎大学医学部附属病院第二内科、帝京大学医学部第4内科、東海大学医学部消化器内科、東海大学医学部付属東京病院、東京厚生年金病院、東京慈恵会医科大学、東京慈恵会医科大学付属第三病院、東京慈恵会医科大学付属柏病院、東京女子医大消化器内科、東京専売病院、東京通信病院消化器科、東京都済生会中央病院、東京大

学医学部肝胆膵外科、東北大学医学部消化器内科、藤田保健衛生大学消化器内科、徳島大学医学部第一外科、日本医科大学第一内科、浜松医科大学第二内科、福井県済生会病院、福岡大学医学部第三内科学教室、兵庫医科大学第三内科学教室、防衛医科大学校内科第二、北海道大学医学部附属病院第三内科、北里大学東病院消化器内科、名古屋大学医学部第三内科肝臓研究室、琉球大学医学部第一内科、横浜市民病院消化器科、日本歯科大学新潟歯学部附属医科病院

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toda G. Is anti-pyruvate dehydrogenase complex a predictor of the development of primary biliary cirrhosis?, *J Gastroenterol* 36(4): 284-285;2001
- 2) 戸田剛太郎. 自己免疫性肝炎の疾患概念. *肝胆膵* 43 (1): 9-16; 2001
- 3) 戸田剛太郎. 自己免疫性肝炎. *日医雑誌* 126 (5) MK-9~MK-12; 2001
- 4) 戸田剛太郎. 日本医師会生涯教育講座「肝炎の病態と診断」*東京都医師会雑誌* 54 (6): 42-47; 2001
- 5) 銭谷幹男, 戸田剛太郎. 自己免疫性肝炎の診断基準をめぐって. *Current Therapy* 19 (8): 21-26; 2001
- 6) 銭谷幹男: 自己免疫性肝炎の治療と対策. *消化器の臨床* 5, 41-46, 2002.
銭谷幹男, 戸田剛太郎: 自己免疫性肝炎の診断基準をめぐって. *Current Therapy*, 19: 921-926, 2001
- 7) Mikio Zeniya, Hiroki Takahashi, Yoshio Aizawa and Gotaro Toda: Molecular Mechanisms of T cell Responses of Autoimmune Hepatitis. Pp229-237. *Molecular Biology and Immunology in Hepatology*. Ed. T.Tsuji and KH Meyer zum Buschenfelde. Elsevier 2002
- 8) Sasaki M, Yamauchi K, Tokushige K, Isono E, Komatsu T, Zeniya M, Toda G, Hayashi N. Clinical significance of autoantibody to hepatocyte membrane antigen in type 1 autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001 Mar; 96(3): 846-51
- 9) 渡辺文時, 戸田剛太郎. 自己免疫性肝炎・原発性胆汁性肝硬変の診断と治療. *今月の治療*

2001 ; 9 : 56-67

- 10) 渡辺文時, 戸田剛太郎. AIHの疫学, 臨床像. 辻 孝夫編, 自己免疫性肝障害の臨床. 東京: 日本医学館, 2001 : 36-50.
- 11) 渡辺文時, 戸田剛太郎. UDCA療法をめぐる Controversy AIH: 適応症例の選択と投与方法. 肝胆膵2001 ; 43 : 1079-1088.
- 12) 高橋宏樹, 戸田剛太郎: 安全なステロイド療法-肝疾患. 臨床と研究78, 31-34, 2001.
- 13) 高橋宏樹, 戸田剛太郎: 自己免疫性肝疾患診療の現状. 消化器の臨床5, 13-18, 2002.

2. 学会発表
なし

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

(2) 自己免疫性肝炎における免疫関連分子の遺伝子多型の解析

主任研究者 戸田 剛太郎 東京慈恵会医科大学内科学講座 消化器肝臓内科 主任教授

研究要旨：【目的】欧米では自己免疫性肝炎（AIH）とcytotoxic T lymphocyte antigen 4（CTLA-4）遺伝子多型と疾患感受性との関連が指摘されている。我々は日本人のAIH患者のCTLA-4・interferon gamma（IFN- γ ）・transforming growth factor β 1（TGF β 1）・interleukin-12 β （IL-12 β ）遺伝子多型を解析し、疾患感受性・臨床病態との関連を検討した。

【方法】対象はインフォームドコンセントを得たAIH患者51名、健常成人94名。

【結果】CTLA-4遺伝子型の検討ではAIH患者（G/G 51.1% A/G 38.3% A/A 10.6%）では健常人（G/G 40.4% A/G 50.0% A/A 9.6%）に比べG/G遺伝子型が多い傾向を認めたが、統計学的な有意差は証明できなかった。また病態との関連も認めなかった。その他IFN- γ 、TGF β 1、IL-12 β 遺伝子型の頻度は、健常人と差を認めず、病態との関連も認めなかった。

共同研究者

| | | |
|-------|----------------------------|-----|
| 銭谷 幹男 | 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器肝臓内科 | 助教授 |
| 高橋 宏樹 | 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器肝臓内科 | 助手 |
| 天野 克之 | 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器肝臓内科 | 医員 |

カイ2乗検定で、病態との関連は Mann-Whitney U 検定で評価した。なお本検討に関する一連の手続きは平成12年4月厚生省科学審議会の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」に基づき学内倫理委員会の審査・許可を得て行なっている

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（AIH）はその発症に環境因子と遺伝的因子の両者の関与が考えられているが、現在まで遺伝的要因の解析はHLAを中心に行われてきた。最近欧米でCytotoxic T Lymphocyte Antigen-4（CTLA-4）の遺伝子多型と疾患感受性との関連が報告され、非HLA疾患感受性遺伝子が注目されている。しかし遺伝的背景の異なる日本人ではまだ解析はなされていない。またInterferon gamma（IFN- γ ）、transforming growth factor β 1（TGF β 1）、and interleukin-12 β （IL-12 β ）などのサイトカインもAIHの病態に深く関連していると考えられるが、それらの遺伝子型の検討もまだ行われていない。そこで今回我々はCTLA-4遺伝子多型に加え、IFN- γ 、TGF β 1、IL-12 β の遺伝子型も解析し、疾患感受性と病態に与える影響を検討した。

B. 研究方法

対象は文書による説明と同意を得た、診断基準を満たす自己免疫性肝炎患者51例と健常人94名である。通常の方法でDNAを抽出し、CTLA-4、IL-12 β 遺伝子型はPCR-restriction fragment length polymorphi-sm（PCR-RFLP）法で、IFN- γ 、TGF β 1遺伝子型はamplification refractory mutational system（ARMS）PCR法で解析した。疾患感受性との

C. 研究結果

AIH患者51名の臨床病態は以下の結果であった（±標準誤差を記載した）。平均年齢48.3±1.9歳。男女比3名：48名。平均AST 468.1±87.9 IU/L（正常範囲≤33 IU/L）、平均ALT 511.0±75.8 IU/L（正常範囲≤35 IU/L）、平均ALP 437.8±53.0 IU/L（正常範囲≤300 IU/L）、平均T.Bil 2.8±0.7 mg/dl（正常範囲≤1.1 mg/dl）、平均IgG 2665±144 mg/dl（正常範囲870-1700 mg/dl）、ANA陽性率100%、肝硬変例6例（11.8%）

CTLA-4遺伝子型の検討ではAIH患者（G/G 51.1% A/G 38.3% A/A 10.6%）では健常人（G/G 40.4% A/G 50.0% A/A 9.6%）に比べG/G遺伝子型が多い傾向を認めたが、統計学的な有意差は証明できなかった。また病態との関連も認めなかった。その他IFN- γ （AIH患者（T/T 0% A/T 21.5% A/A 76.4%）vs 健常人（T/T 1.0% A/T 17.0% A/A 81.9%））、TGF β 1（AIH患者（C/C 22% C/T 48% T/T 30%）vs 健常人（C/C 34% C/T 38% T/T 28%））、IL-12 β （AIH患者（A/A 29% A/C 38% C/C 25%）vs 健常人（A/A 27% A/C 50% C/C 23%））遺伝子型の頻度は健常人と差を認めず、病態との関連も認められなかった。

D. 考察

海外ではAIH・原発性胆汁性肝硬変（PBC）の疾患感受性とCTLA-4 遺伝子多型との関連が報告されて

いる。今回我々の検討では有意差こそ指摘できなかつたものの、患者群では健常人群に比しG alleleの頻度が多い傾向は欧米での報告と共通であった。また欧米の報告では遺伝子多型と病態との関連も報告されているが、今回の検討では病態との関連は認められなかつた。欧米の報告と違いをきたしている原因は、症例数の差によるものが考えられる。したがって今後解析症例数の増加に伴い欧米での報告と同様の結果が得られる可能性がある。

E. 結論

わが国における自己免疫性肝炎患者のCTLA-4、IFN- γ 、TGF β 1、IL-12 β 遺伝子多型の解析を行い、健常人とその頻度の比較を行った。

- 1) CTLA-4遺伝子解析の結果、AIH患者では健常人に比べG/G遺伝子型が多い傾向を認めたが、統計学的な有意差は証明できなかった。
- 2) CTLA-4遺伝子多型と病態との関連は認められなかつた。
- 3) IFN- γ 、TGF β 1、IL-12 β 遺伝子多型の解析の結果、これらの遺伝子多型と疾患感受性・病態との関連は認められなかつた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

- 1) 天野克之、高橋弘樹、銭谷幹男、戸田剛太郎、他、CTLA-4遺伝子多型と原発性胆汁性肝硬変の疾患感受性、病態との関連、第37回日本肝臓学会総会（2001年5月17、横浜）
- 2) 天野克之、高橋弘樹、銭谷幹男、戸田剛太郎、他、IFN γ ・CTLA-4遺伝子多型と自己免疫性肝疾患の疾患感受性、病態との関連、第5回日本肝臓学会（2001年10月17日、京都）
- 3) 天野克之、高橋弘樹、銭谷幹男、戸田剛太郎、他、原発性胆汁性肝硬変症の発症・病態に關与する免疫關連分子の遺伝子多型の解析、第29回日本臨床免疫学会（2001年12月10日、大阪）

H. 知的所有權の取得狀況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

- (1) 急性発症型自己免疫性肝炎の病態
- (2) 自己免疫性肝炎におけるグルココルチコイドレセプター β の発現とステロイド治療効果

研究協力者 辻 孝夫 岡山大学大学院消化器・肝臓・感染症内科学 教授

研究要旨： (1) 急性発症型自己免疫性肝炎の病態： 自己免疫性肝炎のなかには、急性肝炎様の発症を示す症例も存在する。急性肝炎様に発症した自己免疫性肝炎（急性発症型自己免疫性肝炎）9例の病態、肝病理組織像について検討した。急性発症型自己免疫性肝炎では、定型的自己免疫性肝炎に比較して、ALT値は高値を示したが、血清IgG値およびAIH Scoreは有意に低値を示した。急性発症型自己免疫性肝炎肝の病理組織像では、Stageが低い症例が多かった。しかし、3例ではStage 4であり、慢性肝炎の急性増悪と考えられる症例も存在した。急性発症型自己免疫性肝炎のうち、1例は劇症肝炎として発症し、生体部分肝移植が施行された。

(2) 自己免疫性肝炎におけるグルココルチコイドレセプター β の発現とステロイド治療効果： 自己免疫性肝炎の病態、Prednisolone (PSL) 治療効果に関連して、末梢血単核球でのグルココルチコイドレセプター β (GR β) mRNAの発現について検討した。自己免疫性肝炎患者34例を対象とし、末梢血リンパ球におけるGR β の発現はRT-PCR法により検討した。GR β の発現は自己免疫性肝炎患者で有意に高率であり、さらにステロイド治療寛解例と再燃例と比較すると、寛解例ではGR β 発現は15.8%であったが、再燃例ではGR β 発現は87.6%と有意に高率であった。末梢血リンパ球におけるGR β の発現はPSL治療効果の予測に寄与する可能性が示唆された。

(1) 急性発症型自己免疫性肝炎の病態

A. 研究目的

自己免疫性肝炎は、抗核抗体などの自己抗体陽性、高IgG血症を特徴とする慢性活動性肝炎であるが、なかには自己免疫性肝炎としての典型的臨床像を示さず急性肝炎様に発症する症例も存在する。今回、急性肝炎様に発症した自己免疫性肝炎（急性発症型自己免疫性肝炎）の病態を明らかにする目的で、臨床検査結果、肝病理組織像について定型的自己免疫性肝炎と比較検討した。

B. 研究方法

急性発症型自己免疫性肝炎について、以下のように定義した。1) 既往の肝疾患がなく急性肝炎様の発症を示す。2) 肝炎ウイルスや薬剤の関与が否定される。3) 抗核抗体または抗平滑筋抗体が経過中に陽性である。3) ステロイドまたは免疫抑制剤が著効を示す。これらの定義を満たす症例9例と、従来の自己免疫性肝炎の臨床病態を示す症例（定型的自己免疫性肝炎）29例の入院時臨床検査結果、および肝病理組織像について比較検討した。

C. 研究結果

急性発症型自己免疫性肝炎と定型的自己免疫性肝炎では、年齢・性に相違は認められなかった。入院時のALTの平均値は、急性発症型自己免疫性肝炎で 1034 ± 583 IU/lであり、定型的自己免疫性肝炎 223 ± 236 IU/lに比較して有意に高値であった。血清IgG値の平均値は急性発症型自己免疫性肝炎では 2463 ± 654

mg/mlと、定型的自己免疫性肝炎 3314 ± 1121 mg/mlに比較して低値であった。両者の間で抗核抗体陽性率には有意差は認められなかったが、急性発症型自己免疫性肝炎9例中2例は抗核抗体陰性であった。DR2あるいはDR4陽性率に差は認められなかった。AIH scoreは、急性発症型自己免疫性肝炎では 12.3 ± 3.5 と、定型的自己免疫性肝炎 16.4 ± 2.2 に比較して低値であり、10点未満の症例も2例存在した。免疫抑制剤は急性型、定型的自己免疫性肝炎いずれにも有効であった。

肝病理組織では、Modified HAI scoreで、A、B、C、Dのスコアに有意な差は認められなかったが、急性発症型自己免疫性肝炎でZone 3 necrosisの高い症例も認められた。Stagingでは、急性発症型自己免疫性肝炎で低い症例が多かった。しかし、急性型自己免疫性肝炎のなかでも3例はStage 4であった。

一方、急性発症型自己免疫性肝炎のなかには、劇症肝炎として発症した症例も存在した。症例は44歳の女性で、入院時検査ではT.Bil 16.86 mg/dl、AST 442 IU/l、ALT 399 IU/l、IgG 3125 mg/dl、抗核抗体2560倍、PT 30%であった。発症18日目で3度肝性脳症がみられ、血漿交換、持続ろ過透析を施行するも、肝機能の回復が得られず入院後40日目に夫をDonorとして生体部分肝移植を施行し、救命しえた。

D. 考案

急性発症型自己免疫性肝炎9例と定型的自己免疫性肝炎29例について、臨床検査結果、肝病理組織像を比較検討した。急性発症型自己免疫性肝炎では、定型的自己免疫性肝炎に比較して、ALT値は有意に高値

であったが、逆に血清IgG値は低値であった。血清IgG値は、2000mg/dl以下の症例が9例中3例存在した。一方、抗核抗体陰性例も9例中2例存在した。さらに、AIH scoreも急性発症型自己免疫性肝炎で有意に低値であった。これらのことから、急性発症型自己免疫性肝炎では、定型的自己免疫性肝炎に比較して、自己免疫性肝炎の特徴的臨床像に乏しいことが示唆された。

一方、肝病理所見では、急性発症型自己免疫性肝炎でZone 3 necrosisの強い症例も認められたが、全体として有意な差は認められなかった。Stagingでは、急性発症型自己免疫性肝炎で低い症例が多くみられたが、3例ではStage 4であった。臨床経過では急性発症型であっても、なかには慢性肝炎の急性増悪像をしめす症例も含まれることが示唆された。

一方、これらの症例のなかには劇症肝炎として発症した症例も含まれる。以前より、劇症肝炎として発症した自己免疫性肝炎の存在も報告されている。今回検討した急性発症型自己免疫性肝炎のなかには自己免疫性肝炎としての臨床的特徴に乏しい症例もあり、逆に原因が特定できない劇症肝炎、特に中年女性の劇症肝炎のなかには自己免疫性肝炎による劇症肝炎も含まれている可能性も示唆される。

E. 結論

急性発症型自己免疫性肝炎のなかには自己免疫性肝炎としての臨床的特徴に乏しい症例もあり、また肝病理組織像からは慢性肝炎の急性増悪像をしめす症例も含まれる。さらに、急性発症型自己免疫性肝炎のなかには劇症肝炎として発症する症例も含まれる。

(2) 自己免疫性肝炎におけるグルココルチコイドレセプターβの発現とステロイド治療効果

A. 研究目的

末梢血単核球におけるグルココルチコイドレセプターβ (GRβ) の発現は、気管支喘息、炎症性腸疾患におけるsteroid治療効果に関連することが報告されている。今回、自己免疫性肝炎の病態およびPrednisolone治療効果に関連する因子を検討する目的で、自己免疫性肝炎患者末梢血単核球におけるGRβの発現を解析した。

B. 研究方法

当科において診断、治療した自己免疫性肝炎患者34例(男性4例、女性30例;国際診断規準スコアの中央値17点)を対象とした。対象とした症例のうち、SL治療による寛解症例は19例、再燃症例は15例であった。

GRβの発現は、末梢血単核球よりRNAを分離し、特異的primerを用いたRT-PCRにより検討した。

対象患者および健常者からインフォームドコンセントを得たのち解析を行った。

C. 研究結果

自己免疫性肝炎患者末梢血単核球におけるGRβ mRNAの発現は、34例中16例(47.1%)にみられ、Control群38例中5例(13.2%)に比較して有意に高率であった。

自己免疫性肝炎でのPrednisolone治療による寛解症例19例中3例(15.8%)にGRβ mRNAの発現がみられたが、16例(84.2%)には発現は見られなかった。一方、Prednisolone治療中の再燃症例では、15例中13例(86.7%)にGRβ mRNAの発現がみられ、寛解症例に比較して有意に高率であった。

D. 考案

自己免疫性肝炎における第一選択薬剤はPrednisoloneであり、自己免疫性肝炎はPrednisoloneに対して著効を示す症例が多い。しかし、自己免疫性肝炎のなかにはPrednisoloneに対して治療抵抗を示す症例、あるいはPrednisolone維持治療中に再燃する症例が存在することも知られている。Prednisolone治療抵抗症例、再燃症例においては、寛解導入・維持のために多量のPrednisoloneあるいは他の免疫抑制剤の併用を必要とする症例もある。こうしたPrednisolone治療に対する反応性が予測可能であれば、その治療上きわめて有用である。さらに、Prednisolone治療反応性に関与する因子の発現を抑制できれば、より効果的な治療効果が得られることが予測される。

Glucocorticoid receptorにはGRαとGRβの二つのレセプターが存在する。最近GRβはGlucocorticoid response elementには結合せず、非活性であることが報告された。末梢血単核球におけるGRβの発現は、Prednisolone治療効果に関連することが、気管支喘息、潰瘍性大腸炎患者について報告されている。今回検討した自己免疫性肝炎患者についても、末梢血単核球でのGRβの発現は健常者に比較して高率であった。さらに、Prednisolone維持療法中に再燃した症例では、寛解維持が可能であった症例に比較してGRβの発現が高率であった。逆に、自己免疫性肝炎症例でGRβ mRNAの発現が認められない症例では、Prednisolone治療有効症例が多いことが判明した。従って、末梢血単核球でのGRβの発現はPrednisolone治療効果と関連することが示され、自己免疫性肝炎のPrednisolone治療効果の予測に寄与する可能性が示唆された。

E. 結論

自己免疫性肝炎患者で、Prednisolone治療中に再燃した症例で末梢血単核球でのGRβの発現が高率に認められた。GRβの認められない症例ではPSL治療有効症例が多かった。GRβの検索が治療効果の予測に寄与する可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakaguchi K, Kitano M, Tsuji T, et al. Serum level of transforming growth factor-β 1 (TGF-β

1) and the expression of transforming growth factor- β receptor type II in peripheral blood mononuclear cells in patients with autoimmune hepatitis. Hepato-Gastroenterology in press, 2002.

Takenami T, Sakaguchi K, Tsuji T, et al. The therapeutic effects of azathioprine in combination with low-dose prednisolone in patients with intractable autoimmune hepatitis type I. Acta Med Okayama, in press, 2002.

2. 学会発表

西村 守, 坂口孝作, 辻 孝夫, 他
自己免疫性肝炎 (AIH) におけるプレドニゾロン治療効果と glucocorticoid receptor β (GC β) の発現
第38回日本消化器免疫学会総会 平成13年8月 札幌市

三宅康広, 坂口孝作, 辻 孝夫, 他
自己免疫性肝炎における血清中抗ヒトHSP70, 60抗体の検討
第38回日本消化器免疫学会総会 平成13年8月 札幌市

坂口孝作, 武南達郎, 辻 孝夫, 他
プレドニゾロン治療抵抗性自己免疫性肝炎に対するアザチオプリン、低用量プレドニゾロン併用療法の有用性
第34回日本肝臓学会西部会 平成13年12月 高知市

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

厚生科学研究費補助金（難治性の肝疾患に関する研究事業） 分担研究報告書

マイクロサテライト多型を用いた自己免疫性肝炎の疾患感受性の解析

研究協力者 清澤 研道 信州大学医学部第二内科教授

研究要旨：自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis: AIH）は、その疾患感受性にヒト組織適合抗原（HLA）の遺伝子の関与が示されてきた。わが国では、HLA-DR4抗原を発現する遺伝子に疾患感受性があることが報告されている。

HLA全領域におけるマイクロサテライト多型とHLA-A, B, C, DR, DQタイピングの組み合わせにより、また、ハプロタイプの検討より、AIHにおけるHLA領域内での疾患感受性遺伝子はDRそのものである可能性が高いと考えられた。

共同研究者

吉澤 要 信州大学医学部第二内科講師
太田正穂 信州大学医学部法医学講師

A. 研究目的

自己免疫性肝炎（autoimmune hepatitis: AIH）は、その疾患感受性にヒト組織適合抗原（HLA）の遺伝子の関与が示されてきた。わが国では、HLA-DR4抗原を発現する遺伝子に疾患感受性があることが報告されている。しかし、病態の違いやDR4をもたない患者の存在などよりHLA-DR以外の疾患感受性遺伝子の存在が示唆され、多因子性の遺伝疾患であると考えられている。

今回、AIHにおける遺伝的相関解析を、3.6MbのHLA領域の全体をカバーするマイクロサテライトマーカーを用いて、DR遺伝子そのものに疾患感受性があるのか、またDR以外の疾患感受性遺伝子が存在するのかを検索することを目的とした。

B. 研究方法

AIHスコアで診断の患者46名、コントロールとして非血縁関係の100名において、血清学的にHLA-A, B, C, DR, DQをタイピングした。さらに末梢血よりDNAを抽出し、DR, DQのDNAタイピングを行った。

HLA領域内の17、領域両側近傍の2つのマイクロサテライトマーカーを設定し、それぞれの多型を解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は信州大学倫理委員会にて承認を得ており、末梢血よりDNAを抽出し本研究に使用することを患者に説明し、文章にてインフォームドコンセントを行った。コントロールDNAに関しては、血液採取時、同様に承諾を得ている。

C. 研究結果

HLA-A, B, C, DR, DQ血清型タイピングでは、AIH患者ではコントロールに比べ、HLA-B54, DR4, DQ4が有意に高頻度であった。DR, DQのDNAタイピングでは、DRB1*0405（67% vs. 30%, OR 4.91, p=

0.0003）、DQB1*0401（65% vs. 27%, OR 5.02, p=0.0002）に有意差を認めた。マイクロサテライトマーカーでは、DRとDQ遺伝子の間に設定したDQ-CARにおいて対立遺伝子115でp=0.0008, pc=0.08, OR 2.92（50% vs. 26%）と有意差を認めた。他のすべてのマイクロサテライトマーカーにおいてはpc<0.05のものは存在しなかった。以上よりHLA-B, DR, DQと19のマイクロサテライト多型をORとp値をグラフにするとHLA-DR, DQとHLA-Bの近傍にのみAIHとコントロールの間に有意差を認めた。

D. 考察

AIHは急激に発症し短期間に肝不全にいたるものから、緩徐に発症するもの、ステロイド治療への反応性の違いなど、また、DR4をもたないものも小数存在する。このため、HLA-DR以外の疾患感受性遺伝子の存在が示唆され、多因子性の遺伝疾患であると考えられている。

近年、第6染色体短腕に存在する3.6MbにおよぶHLA領域の全ゲノム配列が決定し200をこえる遺伝子の存在が明らかになった。マイクロサテライト（2-7塩基の繰り返し単位からなる配列で、その繰り返し回数多型）マーカーを用い、HLA領域内の他の遺伝子が疾患感受性を示していることも自己免疫疾患で報告されつつある。さらに、現在30億塩基対からなるヒトゲノムの解読が世界的にすすめられており、全染色体領域にわたり、100kbに1個の間隔で計3万個のマイクロサテライトの設定・配置のプロジェクトが進行している。これにより、ゲノムワイドに連鎖不平衡マッピングを行うことが可能となる。このように、マイクロサテライト多型を用いた相関解析により疾患感受性候補領域を絞り込み、そのなかでSNP解析を行い疾患感受性遺伝子を検索する方法が開発されている。

以上のことを踏まえ、今回はAIHでの疾患感受性遺伝子を検索をHLA全領域においてマイクロサテライト多型を用いた相関解析にて検討した。この結果、HLA-DR, DQとHLA-Bの近傍にのみAIHとコントロールの間に有意差を認めた。HLA-B54-DRB1*0405

-DQB1*0401はハプロタイプをなしており、この領域では、HLA-DR遺伝子そのものに疾患感受性があると考えられた。今後、HLA以外の遺伝子においても順次マイクロサテライトマーカーを用いた相関解析を行い、疑われる遺伝子においてはSNP解析を行う予定である。

E. 結論

HLA全領域におけるマイクロサテライト多型とHLA-A, B, C, DR, DQタイピング（一種のSNP:一塩基置換）の組み合わせにより、また、ハプロタイプの検討より、AIHにおけるHLA領域内での疾患感受性遺伝子はDRそのものである可能性が高いと考えられた。今後、HLA以外の遺伝子においても順次マイクロサテライトマーカーを用いた相関解析を、さらにSNP解析を行い、AIHの発症、病態の解明を目指す。これにより、患者個々の予後の予測、治療法の決定などが可能となると思われる。

F. 健康危険情報

ルーチン検査としての末梢血採血時に10mlのサンプルを研究用に使用した。そのため、一般の末梢血採血時における合併症の危険につき説明、理解を得た。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
一條哲也、吉澤 要、清澤研道
当科における自己免疫性肝疾患の実態と変遷
—自己免疫性肝炎を中心に—
第88回日本消化器病学会総会 パネルディスカッション2
(2002年4月25日 予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

難治性肝疾患に関する研究

自己免疫性肝炎の病態におけるサイトケラチンの関与

研究協力者 西岡 幹夫 香川医科大学医学部第三内科学講座 名誉教授

研究要旨：自己免疫性肝炎（AIH）では種々の自己抗体が産生されることが知られているが、その詳細は未だ明らかになっていない。これまで我々はAIHと自己抗体についての研究で、AIH患者血清中にサイトケラチン（CK）に対する自己抗体の存在、さらに、AIH肝細胞におけるCKの変化を示し、その病態との関与について検討してきた。AIH肝組織においてCK19陽性細胞が発現し、さらにその自己抗体が産生されることから、これらの現象がAIHの肝障害、アポトーシスに関与している可能性を示唆した。本研究では、AIH肝組織におけるサイトケラチンの分布とアポトーシス関連蛋白の発現を免疫染色法により確認した。また、TNF- α によりアポトーシスをきたしたCK19陽性培養肝細胞におけるCK19フラグメント（CYFRA21-1）の推移を検討した。さらに、AIH患者におけるCK19特異的末梢血リンパ球についての検討を行った。

【A. 目的】

細胞骨格の主な構成要素は微小管、マイクロフィラメントおよび中間フィラメントであり、CKは上皮細胞に存在する8~10nm程の中間フィラメントの一つで、現在20種類のCKの存在が確認されている。肝細胞の中間フィラメントは主にCK8および18により構成され、胆管上皮細胞ではCK7, 8, 18, 19により構成されている(1)。過去の報告で、CK18ノックアウトマウスに慢性肝炎を発症することが示され(2)、また、原因不明の肝障害、肝硬変においてCK8やCK18のmutationを伴う症例が存在すること(3,4)、CKがアポトーシスの際に劇的な変化を示すこと(5,6)からも、サイトケラチンは細胞障害の病態、アポトーシスに関連の強い蛋白と考えられている。

これまでの報告の中で、肝細胞のCKであるCK8、CK18に対する自己抗体がAIHにおいて上昇することに加え、本来肝細胞には存在しないCK19に対する自己抗体がAIHにおいて上昇することを示し、さらにAIH肝組織においてCK19をaberrantに発現する肝細胞を高頻度にとめた(7))。本研究では、AIHにおいてCK19をaberrantに発現した肝細胞の細胞障害が抗CK19抗体の産生および肝障害の病態に関与している可能性を示唆し、アポトーシスとの関連を含め検討した。

【B. 対象と方法】

1. サイトケラチンおよびアポトーシス関連蛋白の免疫組織染色

肝細胞の主な中間フィラメントであるCK8、CK18と胆管上皮細胞に存在するCK19について、またアポトーシス関連蛋白としてCaspase3、BAX、Cathepsin Dについて免疫染色により検討した。

対象は自己免疫性肝炎患者12例生検肝組織であり、いずれも免疫抑制療法前に採取された検体を

用いた。疾患コントロールとしてC型慢性活動性肝炎患者12例生検組織について検討した。

2. CK19を発現するヒト肝細胞癌cell line (HuH-7)におけるTNF- α を用いたアポトーシス誘導とCK19およびCK19 fragment (CYFRA21-1)の解析

・TNF- α を加え培養したHuH-7上清中のCYFRA21-1の推移 (Dose dependentおよびTime dependent) を検討した。さらに、Annexin Vを用い、TNF- α により刺激したHuH-7におけるアポトーシスの検出を行った。

・抗CK19抗体 (K.19.1) によるHuH-7の免疫染色によるTNF- α 刺激HuH-7の細胞内CK19の変化を確認した。

・Caspase3 colorimetric activity assay kitを用い、recombinant human TNF- α (10 ng/ml) を加えたHuH-7に対するcaspase-3 activityを測定し、さらにCaspase3 inhibitor (Z-DEVD-FMK) を用い、caspase-3抑制下でのHuH-7上清中CYFRA21-1の推移を検討した。

3. AIH患者末梢血リンパ球のCK19による反応

・対象は自己免疫性肝炎患者12例。いずれも免疫抑制療法を受け、肝障害の改善している患者である。疾患コントロール群としてC型慢性肝炎患者16例、正常人9例を検討した。

・Stimulation Index (S.I.) の測定

末梢血より分離したリンパ球にCK19を加え、78時間培養した後、thymidineを加えさらに18時間培養し、Stimulation Index (S.I.)を測定し、対象疾患と比較検討した。

・増殖細胞のphenotypeの同定

抗ヒトCD4抗体、抗ヒトCD8抗体を用いたBlocking実験により、増殖細胞のcytokine profileの確認を行った。

・CK19特異的Tリンパ球のcytokine profileを培

養液中よりEIA (enzyme immunoassay) を用いて測定した。

【C. 研究結果】

サイトケラチンおよびアポトーシス関連蛋白の免疫組織染色

肝細胞の主要なintermediate filamentであるCK8およびCK18に対する免疫染色では、C型慢性肝炎肝組織で全ての肝細胞に均一にCK8及びCK18の発現が認められた。一方、AIHにおいてはCK8またはCK18が高頻度に発現する肝細胞と発現しない肝細胞が不均一に混在していた。また、本来肝細胞に存在しないCK19に対する免疫染色では、AIHにおいて高頻度に門脈域周囲の肝細胞にaberrantに発現が認められたが、CH-Cでは認められなかった。

アポトーシス関連蛋白における免疫染色では、AIHにおいてCathepsin D、BAXおよびCaspase-3の強発現がみられた。また、Caspase-3の発現する領域はCK19の発現する領域に一致する傾向にあった。

HuH-7におけるTNF- α を用いたアポトーシス誘導とCK19およびCK19 fragment (CYFRA21-1)の解析

CK19陽性培養肝癌細胞に対するTNF- α の刺激により、TNF- α の用量および培養時間依存的に上清中のCK19 fragment (CYFRA21-1)の上昇が認められた。

免疫染色では、TNF- α 処理を行うことでCK19が凝集することが確認された。また、Caspase3 colorimetric activity assay kitを用いたCaspase-3活性の検討では、TNF- α 処理によるHuH-7におけるcaspase-3の活性はTNF- α 未処理の細胞と比較して有意に高値を示した。さらに、caspase-3の抑制により上清中CYFRA21-1の減少がみられた。

AIH患者末梢血リンパ球のCK19による反応

AIH症例におけるCK19特異的リンパ球の増殖 (S.I.)は対象のCH-Cおよび健常人と比較して有意に高値を示した。また、CD4およびCD8各々を抑制したブロッキング実験で、CD8のブロッキングにより細胞増殖がみられることから、CK19により増殖する細胞がCD4陽性リンパ球であることが示され、さらにサイトカインプロファイルにより、IFN- γ およびIL-12が高値を示した。

【D. 考察】

本研究では、CKの動態とAIHとの関与について検討を行った。

AIHにおけるCK8およびCK18の発現を検討したところ、これらが欠落した肝細胞が存在することが明らかとなった。CKと肝細胞の関わりとしては、CK18ノックアウトマウスが慢性肝炎を発症すること、CK8またはCK18を発現しない肝細胞のcell lineでTNF- α によるアポトーシスが起りやすくなること等が報告

されており、CKは肝細胞における細胞保護として重要な役割をはたしていると考えられる (2, 8)。AIHにおけるCK8またはCK18の欠落は、肝細胞の脆弱性を示唆するものと考えられた。

また、CK19についてもその発現を検討したところ、AIHではCK19をaberrantに発現する肝細胞が高頻度にみられ、発現する領域はcaspase-3と一致する傾向にあった。さらに、AIHでCathepsin Dが強発現していた。Cathepsin Dはアポトーシスの初期段階で発現が増加することが知られており、このことからアポトーシスとの関連が示唆された。

CKは細胞のアポトーシスの際にcaspase-3により切断される部位を持ち、すでにそのcleavage sightが証明されている。今回、CK19陽性の培養細胞にTNF- α によるアポトーシスを誘導したところ、caspase-3の活性が上昇するとともに上清中のCK19 fragmentが増加した。AIHでは肝組織にCK19がaberrantに発現しており、また患者血清中抗CK19抗体が上昇していることがこれまでの検討より明らかになっている (7)。このことからAIHにおけるCK19陽性肝細胞がアポトーシスに陥った際、CK19 fragmentが放出され、それが抗CK19抗体の産生に関連している可能性が考えられた。

さらに、CK19特異的リンパ球についての検討を行った。AIHにおいてCK19特異的リンパ球が増殖しており、これらのリンパ球はCD4陽性であった。また、IFN- γ 、IL-12が産生されることからTh1細胞であると考えられた。IFN- γ はTh2細胞の、IL-12はTh1細胞の増殖に関与することが知られており、自己免疫疾患の病態の原因となりうるということが報告されている (9, 10)。CK19特異的CD4陽性Th1リンパ球の出現がAIHにおける肝細胞障害の一因となりうると思われる。

【参考文献】

1. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*. 1982 Nov; 31(1): 11-24.
2. Omary MB, Ku NO. Intermediate filament proteins of the liver: emerging disease association and functions. *Hepatology*. 1997 May; 25(5): 1043-8.
3. Ku NO, Gish R, Wright TL, Omary MB. Keratin 8 mutations in patients with cryptogenic liver disease. *N Engl J Med*. 2001 May 24; 344(21): 1580-7.
4. Ku NO, Wright TL, Terrault NA, Gish R, Omary MB. Protein Mutation of human keratin 18 in association with cryptogenic cirrhosis. *J Clin Invest*. 1997 Jan 1; 99(1): 19-23.

5. Prasad, S, Soldatenkov VA, Srinivasarao G, Dritschilo A. Identification of keratins 18, 19 and heat-shock protein 90 β as candidate substrates of proteolysis during ionizing radiation-induced apoptosis of estrogen-receptor negative breast tumor cells. *Int J Oncol* 1998; 13: 757-64.
6. Caulin C, Salvesen GS, and Oshima RG. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *J Cell Biol* 1997; 138: 1379-94.
7. Murota M, Nishioka M, Fujita J, Dobashi N, Wu F, Ohtsuki Y, Hojo S, Takahara J, Kuriyama S. Anti-cytokeratin antibodies in sera of the patients with autoimmune hepatitis. *Clin Exp Immunol*. 2001 Aug; 125(2): 291-9.
8. Caulin C, Ware CF, Magin TM, Oshima RG. Keratin-dependent, epithelial resistance to tumor necrosis factor-induced apoptosis. *J Cell Biol* 2000; 149:17-22.
9. Adorini L, Gregori S, Magram J, Trembleau S. The role of IL-12 in the pathogenesis of Th1 cell-mediated autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 795: 208-15.
10. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 397-440.

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

自己免疫性肝炎の長期予後と宿主側因子の解析に関する研究

研究協力者 熊田 博光 虎の門病院 消化器科部長

研究要旨：自己免疫性肝炎（Autoimmune hepatitis）は、本邦では稀な疾患であり、その長期予後に関しても未だ一定の見解が得られていない。そこで、我々は1999年に新しく提唱された scoring system¹⁾により definite AIHと診断された症例を対象とし、長期にわたる組織学的変化を検討し、また definite AIHの病態、治療反応性とHLA、各種免疫学的パラメーターを測定し、本疾患の予後と予測因子につき検討した。治療反応性及び組織学的変化を検討したところ、ステロイドを中心とする免疫抑制療法が奏功しているAIH症例では組織学的に改善がみられ、またたとえ肝硬変移行症例でも進行は遅いと考えられた。HLA-DR4およびDR15が高頻度に認められたが、治療反応性のよい症例は組織学的に改善がえられることが証明され、このような症例はHLA-DR14が多く、予後予測因子の一つであることが明らかとなった。

A. 研究目的

我々はこれまでにAIHの組織学的変化と長期予後につき検討を加えてきた。本年は、これまで複数回にわたり肝生検を行い、組織学的変化を確認した症例を対象とし、その臨床経過と宿主側因子を解析することで、何が病態に関与しているのかを明らかにすることを目的とした。我々の検討では、免疫抑制療法を続けていれば肝臓の組織は改善されることが明らかとなったが、各症例間の違いが何に起因するのかを検討し、副作用も起こる可能性のある免疫抑制療法をいかに効果的に行うか、またその指標となる因子が存在するのかを解析した。この三年間の間に新たにAIHと診断された症例については、初回治療の前から測定を開始し、また以前より当院通院中の症例においては、保存血清を用いて経過中の治療反応性により免疫応答の変化についても検討を行った。

B. 対象と方法

1979年から2001年12月までの間に当院に入院し、1999年にInternational Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG)より提唱された新しいcriteriaにより definite AIHと確定診断し得た48例を対象とした。全例に、各種ウイルスマーカー、自己抗体、 γ -globulin、IgGを測定した。男女比は11:37、確定診断時年齢の中央値は50歳（範囲24歳-72歳）で観察期間の中央値は9年（範囲1年-20年）であった。この内、22例については腹腔鏡、肝生検を複数回施行し、その組織学的変化、治療反応性につき検討した。抗核抗体は間接蛍光抗体法（Hep-2細胞）、抗平滑筋抗体は間接蛍光抗体法、抗LKM1抗体は蛍光抗体法、HBs抗原はRIA法、HCV抗体はEIA（第3世代）、HCV-RNAはRT-PCR法、HLA typingは血清学的方法（判定困難な場合PCR-MPH法）を用いて測定した。今回の検討では、DR2、3、5、6については、DR11-18に分離して解析を行った。さらに、治療開始時より測定を開始した症例は、末梢血よりリンパ球を分離し、抗

CD3抗体で固相したプレートで24時間培養した上で、フローサイトメーターにより解析と培養上清中のサイトカインを測定した。統計学的解析はカイ二乗検討を用いた。

C. 研究結果

48症例の確定診断時の血液学的検査の中央値（範囲）はそれぞれALT 85.5IU（8-1242）、 γ -glob. 2.9g/dl（1.2-5.1）、抗核抗体1:1280（1:40-1:10240）であり、3例を除きIgG値は2500mg/dl以上であった。組織学的診断は、F1:22例、F2:18例、F3:5例、F4:3例であった。HLAを検索し得た36例中、DR4陽性例は25例69.4%であり、DR15陽性例及びDR14陽性例はそれぞれ11例30.6%であった。

ALT値よりみた治療反応性では48例中ステロイド治療を行った42例で、初回投与時39例に著効を示した。その後も少量の維持療法でALT値の安定化がみられたのは28例（66.7%）であり、残りの14例（33.3%）はステロイドの増減を繰り返している。また治療を行わなかった6例中3例は、一過性の上昇のみで安定している。次に組織学的変化では、2回以上の組織学的検査を行った22例が、改善12（60.0%）、不変5（25.0%）、悪化3（15.0%）であった。なお、改善不変例17例中13例はステロイド少量により維持療法に移行している症例である。

HLAのtypingを行った36例の治療反応性は、ステロイド20mg/日を越える量でなければ肝酵素の安定化が得られないものを、non-responderとし、それ以下の量で維持可能な症例をresponderとして検討を行った。DR4陽性群のなかにnon-responderが多く、DR14を持っている例では、治療反応性がよい傾向が認められた。さらに、このうちHLAのtypingも行いかつ、組織学的検査を複数回行っている21例において検討を行った。DR14を持つ6例は、改善ないし、著明改善となり治療反応性と同様、有意に改善していた（表1）。また、フローサイトメーターによる検討を

5例につき行い、8例につき保存血清を用いたsoluble Fas, soluble FasL, IL-12 (p70, p40&p70) の検討を行ったが、例数が少ないこともあり、有意差は出ていない。

HLA-DR別の組織学的変化

| HLA-DR | 不変 | 改善 | 著明改善 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 4 | 4 (26.7%) | 6 (40.0%) | 5 (33.3%) |
| 8 | 2 (33.3%) | 1 (16.7%) | 3 (50.0%) |
| 14 | 0 | 2 (33.3%) | 4 (66.7%) |
| 15 | 2 (25.0%) | 3 (37.5%) | 3 (37.5%) |
| その他 | 2 (33.3%) | 3 (50.0%) | 1 (16.7%) |
| n=21 | | | |

D. 考察

近年、自己免疫性肝炎とHLA typingの関係については報告が散見されるが¹⁾、本邦に於いては治療反応性とHLA typingの関係について検討した報告は少ない。今回、自己免疫性肝炎患者36例のHLA typingを行い、可能な限り組織学的検査を施行し、治療反応性との関係を検討した。

36例中DR4またはDR15陽性者は33例(91.7%)と高率で、他報告例との差を認めないが^{2,3)}、治療反応性の良好な症例では、DR14陽性例が多い傾向がみられ、組織学的にも改善している例が多かった。HLA-DR抗原が自己免疫性肝炎の病態に影響を与えている可能性については、HCV陽性例、又、他の自己免疫性肝炎におけるDR抗原の特徴的なパターンの検索において一定の傾向が認められることより、明らかである^{4,5,6)}。本邦のAIH症例では、DR4が高頻度に陽性であり、欧米では、DR3が高頻度である。さらに欧米ではDR3陰性者ではDR4が高頻度である事より、お互いに独立した疾患感受性遺伝子であると考えられている。この事はPBMC及び肝内浸潤リンパ球を用いた報告でも検討されている。肝内浸潤リンパ球が肝細胞あるいは肝細胞由来の自己抗原に感作されていること、門脈域浸潤リンパ球においても、AIHではnon-AIHに比べてCD4陽性細胞優位であるとの報告があり、病態にclass IIが関与している事を示唆しており、DR 4、DR 15が重要な因子であると考えられる⁷⁾。又さらにLKM-1抗体陽性のAIHにおいて、LKM-1特異的T細胞のcell lineを用いたcytokine産生能の検討からTh1細胞優位であるとの報告もあり、AIHの病態におけるclass IIを介したCD4細胞が重要な役割を担っていると考えられる⁸⁾。今回の我々の検討では、組織学的変化、治療の反応性とMHC-class II抗原がどのように関わっているかについて検討を行い、DR抗原によりある程度予後の予測も可能ではないかと考えている。Fas-FasL system に関しては、少数例の検討であり、今

回有意な差がでていないが、これまで免疫応答の強い時期にはsoluble FasLが上昇することを肝臓学会でも報告してきており、今後はin vitroでの検討も加え、さらに症例数を増やし病態形成におけるDR抗原の役割について研究を続けていきたいと考える。

E. 結論

ステロイドによる維持療法が奏功しているAIH症例では組織学的に改善がみられ、またたとえ肝硬変移行症例でも進行は遅いと考えられた。HLA-DR14陽性例では治療反応性が良好である傾向が認められた。

F. 研究発表

- 論文発表
 - 鈴木義之・池田健次・斎藤聡・他. 自己免疫性肝炎 (AIH)の病態とHLA-DR抗原についての解析. 消化器と免疫 No35:188-190,1998.
 - 鈴木義之・熊田博光. 自己免疫性肝炎 (Autoimmune hepatitis:AIH)の長期予後 ミレニアム消化器2000 200-203,2001.
- 学会発表
 - 鈴木義之・熊田博光. 第5回日本消化器免疫学会総会 1998. 自己免疫性肝炎(AIH)の病態とHLA-DR抗原についての解析.
 - 鈴木義之・熊田博光. 第2回日本肝臓学会大会 1998. わが国における自己免疫性肝炎の予後. 一長期観察例における自己免疫性肝炎の病態と予後.
 - 鈴木義之・熊田博光. 第86回日本消化器病学会総会 2000. 自己免疫性肝炎の今後の展開—自己免疫性肝炎の長期予後

文献

- International Autoimmune Hepatitis Group: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology* 1999; 31:929-938
- Seki T, et al: Association of autoimmune hepatitis with HLA-Bw54 and DR4 in Japanese patients. *Hepatology* 1990 Dec; 12(6): 1300-1304
- Zeniya M, et al: Immunogenetic background of hepatitis B virus infection and autoimmune hepatitis in Japan. *Gastroenterol Jpn* 1993 Mar; 28 Suppl 4:69-75
- Zeniya M, et al: HCV-marker-positive autoimmune-type chronic active hepatitis: a possible relation between HCV infection and liver autoreaction. *Liver* 1994 Aug; 14(4): 206-212
- Parveen S, et al: Antibodies to Ro/La, Ccnp-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia:

patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association. Dig Dis Sci 1998 Jun; 43(6): 1322-1331

6. Donaldson PT, et al: Immunogenetics in liver disease. Baillieres Clin Gastroenterol 1996 Sep; 10(3): 533-549
7. Schlaak JF, et al: Analysis of the in vitro cytokine production by liver-infiltrating T

cells of patients with autoimmune hepatitis. Clin Exp Immunol 1993 Oct; 94(1): 168-173

8. Lohr HF, et al: Autoreactive CD4+ LKM-specific and anticonotypic T-cell responses in LKM-1. Hepatology 1996 Dec; 24(6): 1416-1421

図1. 自己免疫性肝炎におけるHLA-DR相互の関係

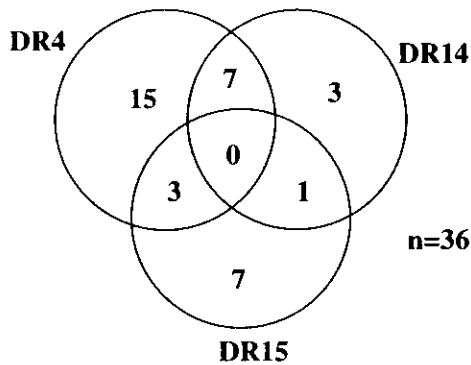
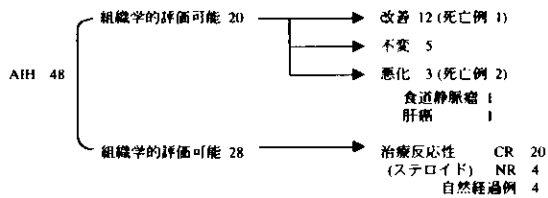


図2. AIHにおける組織学的改善度



厚生科学研究費補助金（特定疾患研究対策事業） 分担研究報告書

マウス自己免疫性肝炎モデル作製の試み

研究協力者 各務 伸一 愛知医科大学消化器内科 教授

研究要旨：II型自己免疫性肝炎の対応抗原であるcytochrome P450 IID6（CYP2D6）をLPSとともに異なる2つのstrainのマウスに免疫することにより肝障害が誘導された。肝障害の程度や抗体産生において両strain間で相違が認められたことから、抗原認識の機序が異なることにより誘導される肝障害にも差異が生じることが示唆された。

A. 研究目的

II型自己免疫性肝炎のマウスモデルを作製し、免疫学的発症機序、病態に関しての詳細な検討を行う。

B. 研究方法

抗LKM-1抗体の対応抗原であるCYP2D6と β galとの融合蛋白、 β gal-CYP2D6をLPSとともに異なる2つのstrainのマウス(Balb/c, C57BL/6)に免疫し、惹起された肝障害の程度をALT値、組織像にて検討した。また、血清中の抗CYP2D6抗体、抗原特異的幼若化反応の解析により、特異的免疫応答の誘導の有無について検討した。

C. 研究結果

両strainとも、 β gal-CYP2D6により肝障害が誘導された。Balb/cマウスではC57BL/6に比べより強い肝障害を呈しているマウスが多く認められた。また、LPS単独投与においても一部のマウスに肝障害が誘導された。 β gal-CYP2D6 で免疫したマウスにおいては、血清中にCYP2D6に対する抗体産生を認めたが、Balb/cでは抗体産生においてもC57BL/6より強い反応が観察された。CYP2D6に対する幼若化反応は、 β gal-CYP2D6で免疫したマウスにおいて両strain共に抑制されていた。

D. 考察

両strainにおいてCYP2D6特異的免疫応答により肝炎が惹起された可能性が示された。また、肝障害の程度や抗体産生において両strain間で相違が認められたことから、抗原認識の機序が異なることにより誘導される肝障害にも差異が生じることが示唆された。LPS単独投与群においても軽度の肝障害、抗体誘導がみられたことは、両strainにおいてCYP2D6に反応する前駆細胞が存在することを示唆すると考えられた。

CYP2D6に対する幼若化反応は、両strain共に抑制されており、何らかの抑制性因子が誘導されたことを示唆すると考えられた。

E. 結論

当モデルは自己免疫性肝炎の発症機序、病態制御機構の解析に有用と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
当該研究に関するものはなし。
2. 学会発表
当該研究に関するものはなし。

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

LKM-1抗体陽性例におけるCYP2D6 genotypeの解析

研究協力者 賀古 眞 社会保険都南総合病院院長

研究要旨：II型自己免疫性肝炎およびC型慢性肝炎の一部に検出されるLKM-1抗体の対応抗原はCytochrome P450IID6 (CYP2D6)である、この酵素は少なくとも21種のgene polymorphismが存在し、活性を規定している。そこで今回、LKM-1抗体陽性C型肝炎患者のCYP2D6 genotypeの解析を行い、LKM-1抗体陰性C型肝炎例と比較した。LKM-1抗体陽性例ではextensive metabolizerであるCYP2D6*1/*1が70%を占めたのに対し、LKM-1抗体陰性例では19%にすぎなかった。本抗体の産生機序にCYP2D6 gene polymorphismが関与することが示唆された。

共同研究者

宮川 浩, 松下昌直(帝京大学溝口病院第4内科),
土方美奈子(国際医療センター),
三代俊治(東芝病院研究部)

A. 研究目的

LKM-1抗体はII型自己免疫性肝炎を特徴づける自己抗体であるが、C型肝炎の一部にも検出される。本抗体の対応抗原はCytochrome P450IID6 (CYP2D6)であることが明らかにされている¹。CYP2D6 geneは21種類以上のpolymorphismが報告されており、CYP2D6*1 (extensive metabolizer) からCYP2D6*5 (complete deficiency) まで分布し、phenotypeを規定している²。今回、LKM-1抗体陽性例におけるCYP2D6 genotypeを解析し、本疾患に特徴的なphenotypeを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

当科および関連病院に入院した肝疾患患者のうち、LKM-1抗体陽性のC型肝炎10例を対象とした。対照として、LKM-1抗体陰性のC型肝炎36例を用いた。全例とも、CYP系に影響する薬剤歴や飲酒歴はない。

2. CYP2D6 genotypeの解析³

LKM-1抗体陽性例の全血からPCRによってCYP2D6cDNAを抽出し、全9つのexonとsplice site-franking regionをnested PCRで増幅し、全領域をシーケンサーによって解析した。また、各exonでPCR-RFLPも併用してgenotypingを行った。(倫理面への配慮)被検体として採血時にinformed consentを得た。

C. 研究結果

1. CYP2D6 alleleの頻度

CYP2D6 alleleの頻度はLKM-1抗体陽性例(n=20)では、CYP2D6*1が16例(0.800)、*2が2(0.800)、*5、*10がそれぞれ1例(0.050)であった。一方、LKM-1抗

体陰性例(n=72)では、*1が31例(0.431)、*10が28例(0.389)、*2が10例(0.139)、*5が3例(0.042)で、他のgenotypeは検出されなかった。両者の間にCYP2D6*1、*10の分布に有意差(P<0.01)を認めた。なお、LKM-1抗体陰性例の分布は以前に報告された本邦正常例の分布(Tateishi T et al: Clin Pharmacol Ther 1995)と差はなかった。

2. CYP2D6 allele combinationの頻度

さらに両者間のallele combinationの頻度を比較した。表1に示すように、LKM-1抗体陽性例(n=10)では、CYP2D6*1/*1が7例(70%)と多くを占めたが、陰性例(n=36)では7例(19%)にすぎず、両者の間に有意差(P<0.01)を認めた。その他のallele combinationには差がなかった。

D. 考察

CYP2D6は第1相薬物代謝系酵素として重要である。CYP2D6 geneの多様性は、phenotypeの相違として臨床的には、とくに薬物相互作用や至適投与量の設定の際に問題になり、その分布は民族間によって相違することが知られている。例えば、non-responderが白人では人口の約7%に存在するが、日本人では1%以下と少ない。また、疾患別にこの多様性の片寄りの有無を検討することは、病態解明の一助になりえる。

MannsらはCYP2D6の低代謝例ではII型自己免疫性肝炎は発症せず、高代謝例のみで発症することを酵素学的に証明している⁴が、genomicな解析は未だ報告されていない。そこで今回、HCV陽性のLKM-1抗体陽性患者のLKM-1抗体の対応抗原であるCYP2D6のgene polymorphismを検討した。表1に示すように、LKM-1抗体陽性例ではLKM-1抗体陰性の対照群と比較して、extensive metabolizerを示すCYP2D6*1/*1 genotypeが高率に検出された。この結果はLKM-1抗体の産生機序に宿主側の背景としてCYP2D6のgenetic factorが強い関連を持つものとして注目される。

なぜLKM-1抗体陽性例でextensive metabolizer-phenotypeと関連しているかの詳細は不明であるが、CYP2D6の抗原刺激がextensive metabolizerにおい

表1 LKM-1抗体陽性および陰性C型慢性肝炎におけるCYP2D6genotype

| Allelic combination | A: LKM-1 (+) CH-C N=10 | B: LKM-1 (-) CH-C N=36 | General control # N=98 | P [A vs B] |
|---------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------|
| *1/*1 | 7 (70%) | 7 (19%) | 18 (18%) | 0.007 |
| *1/*10 | 1 (10%) | 14 (39%) | 33 (34%) | NS |
| *10/*10 | 0 | 5 (14%) | 17 (17%) | NS |
| *1/*2 | 1 (10%) | 2 (6%) | 7 (7%) | NS |
| *2/*5 | 1 (10%) | 0 | 2 (2%) | NS |
| others | 0 | 8 (23%) | 21 (22%) | NS |

#Tateishi T. et al. Clin Pharmacol Ther 1999; 65:570-5.

て過剰産生されていることが考えられる。今回はC型慢性肝炎を対象としたが、CYP2D6 geneの表出はインターフェロン(またはIFNインデューサー)によって抑制されることが知られているため、C型慢性肝炎の患者ではCYP2D6 mRNAは遺伝的に産生が抑制されている。したがってHCV感染を伴わないII型自己免疫性肝炎症例での検討が必要である。

今後、自己免疫性肝炎やhepatic autoimmunityにおいて、肝細胞膜上のCYP2D6 mRNAの多寡と自己抗体の産生についての明確な関連性を示す証拠を見出す必要がある。

E. 結論

LKM-1抗体陽性患者のCYP2D6のpolymorphismを検討した。LKM-1抗体陽性例ではextensive metabolizerであるCYP2D6*1/*1が70%を占めたのに対し、LKM-1抗体陰性例では19%にすぎなかった。本抗体の産生機序にCYP2D6 gene polymorphismが関与することが示唆された。

文献

1. Manns MP, Johnson EF, Griffin KJ. et al. Major antigen of liver kidney microsomal antibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450db1. J Clin Invest 83:1066-1072,1989.
2. Nabert DW, Ingelmen-Sundberg M, Dely AK. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. Drug Metabol Rev 31:467-487,1999.
3. Hijikata M, Miyakawa H, Matsushita M, et al. CYP2D6 polymorphism and the presence of anti-LKM-1 in patients with chronic hepatitis C. Biochem Biophys Res Commun 270:922-926, 2000

4. Manns MP, Obermayer-Straub P. Cytochrome P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, viral-induced, and autoimmune liver disease. Hepatology 26:1054-1066,1997.

F. 研究発表

1. 論文発表
Hijikata M, Miyakawa H, Matsushita M, Kako M, Ohta Y, Mishihiro S. CYP2D6 polymorphism and the presence of anti-LKM-1 in patients with chronic hepatitis C. Biochem Biophys Res Commun 270:922-926, 2000
2. 学会発表
1) Miyakawa H, Hijikata M, Matsushita M, Kawaguchi N, Kako M, Mishihiro S. Genotyping of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in anti-liver-kidney microsomal type-1 (LKM-1) antibodies positive patients with chronic hepatitis C. 12th Asian Pacific Study of the Liver 2000.6.Fukuoka, Japan
2) Miyakawa H, Hijikata M, Mishihiro S. Genetic predisposition of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in anti-LKM-1 antibodies positive patients with chronic hepatitis C. 4th US-Japan Meeting of Autoimmune liver diseases. 2000.9. Hawaii, USA

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし